

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора химических наук, профессора Дейнеки Виктора Ивановича
на диссертационную работу Якубы Юрия Федоровича
«Контроль качества винных дистиллятов и виноградных вин. Проблемы и
аналитические решения», представленную на соискание ученой степени
доктора химических наук
по специальности 02.00.02 – аналитическая химия

Актуальность темы диссертации

В последнее время ассортимент винной продукции на рынке Российской Федерации значительно вырос – на прилавках магазинов появилось большое количество новых марок вин новых же отечественных производителей. В таких случаях выявление фальсификации вин становится принципиально важной задачей с потенциально большим социальным эффектом. Известно, что уровень накопления ингредиентов в растительном сырье может зависеть от множества факторов, начиная с генетического (т.е. от чистоты линий *Vitis vinifera*, или сортов данного вида растений) до условий выращивания, связанных с качеством агрофона, особенностями минерального питания, условиями освещенности и т.д. В случае готовой продукции свой вклад могут вносить и технологические особенности производства. По этой причине достоверные критерии качества винной продукции приобретают первостепенное значение.

Наконец, аналитический контроль исходного материала и получаемой из него продукции для усиления ее экспортного потенциала необходимо осуществлять с учетом директив международной организации виноградарства и виноделия (МОВВ). И, если, например, запрет в Европейском экономическом союзе ЕЭС на наличие в винной продукции мальвидин-3,5-диглюкозида продиктован, скорее всего, попыткой избавиться от конкуренции с производителями, выращивающими гибридные сорта (такие, как «Молдова»), в которых обнаруживаются признаки использованных при селекции морозоустойчивых видов винограда, то множество других показателей директив МОВВ могут и должны использоваться при оценке качества винной продукции в РФ.

Разработка методического подхода для оценки качества продукции, содержащей более 1000 веществ, потенциально влияющих на ее качество, является очень сложной задачей. При ее решении невозможно обойти статистические технологии, - достаточно вспомнить, что именно при решении подобной задачи (установление критериев для качества пива) Уильямом Госсетом был предложен известный всем использующим статистические методы специалистам – критерий Стьюдента (псевдоним значительно опередил по известности имя создателя).

По этой причине актуальность диссертационной работы Якубы Юрия Федоровича не вызывает сомнения.

Научная новизна исследований

Научная новизна в представленной к защите диссертации состоит в комбинации ряда взаимосвязанных показателей:

- а) в выборе среди множества химических характеристик исследуемых материалов наиболее важных, определяющих конечный результат;
- б) в разработке ряда авторских методик определения выбранных показателей, разработанных с использованием современных высокоэффективных инструментальных методов определения различных веществ, включающих капиллярный электрофорез и капиллярную газовую хроматографию;
- в) в разработке методического подхода по использованию полученных результатов для классификации вин и виноматериалов, с широким спектром методов статистического анализа, включая регрессивные модели, дискриминантный анализ и т.д.

Важнейшей особенностью работы является обширная база использованного автором материала – от известного, как заведомо качественного, до фальсификата. При этом автор поставил не тривиальную задачу – определить статистическую взаимосвязь между субъективным показателем качества, - т.е. дегустационными оценками (не умаляя достоинства дегустаторов, следует признать, что их оценка имеет явно «тренировочный» характер, т.е. построена на созданном ранее субъективном опыте) и беспристрастными физико-химическими показателями. Понятно, что такая взаимосвязь может носить только статистический характер с высокой долей вероятностных характеристик.

По указанной причине принципиально важными в научном отношении являются выводы автора о комплексе характеристических соединений, формирующих органолептические и другие показатели продукции, что позволило разработать научно-методологический подход по использованию результатов инструментальных методов для предсказания свойств вин с высокой достоверностью.

Практическая значимость работы также не вызывает сомнений, так как за время работы по тематике диссертации Якубой Ю.Ф в соавторстве с другими исследователями подготовлены, апробированы в реальных аналитических лабораториях предприятий и утверждены ряд ГОСТов, и методик из приведенного ниже списка:

ГОСТ Р 51298-99 «Дистиллят винный» Технические условия.

ГОСТ Р 52841-2007 «Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза.

Методика выполнения измерений массовой концентрации ионов аммония, калия, натрия, магния и кальция в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза (2010 г) со Свидетельством об аттестации МВИ.

Методика выполнения измерения массовой концентрации хлорид-, нитрит-, нитрат- и сульфат ионов в винодельческой продукции методом капиллярного электрофореза (2010 г) со Свидетельством об аттестации МВИ.

Методика оценки подлинности вина. Красные сухие вина и виноматериалы. РД 50.27.15.18/ 0001-03 (2003).

Методика оценки подлинности вина. Игристые и шампанские красные и белые вина. РД 50.27.15.18/ 0002-03 (2003).

Методика оценки подлинности вина. Белые сухие вина и виноматериалы. РД 50.27.15.18/ 0003-03 (2003).

Методика оценки подлинности вина. Вина натуральные полусладкие и специальных технологий. РД 50.27.15.18/ 0004-03 (2003).

Стандарт организации. Биологические объекты, продукты переработки плодов и винограда. Определение массовой концентрации углеводов методом высокоэффективного капиллярного электрофореза (2011).

Стандарт организации. Биологические объекты, продукты переработки плодов и винограда. Определение массовой концентрации общего фосфора методом высокоэффективного капиллярного электрофореза (2012).

Факт промышленного использования разработанных методов подтвержден четырьмя актами внедрения результатов научно-исследовательской работы по изучению химического состава спирта-сырца с целью последующего производства винных дистиллятов на АОЗТ «Кубань», АОЗТ «Виноград», АОЗТ «Победа», АОЗТ «Южная»,

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 306 страницах машинописного текста, состоит из введения, двух глав: обзора литературы в первой главе и 7 подразделов во второй главе (Экспериментальной части), заключения, библиографического списка использованной литературы из 327 наименований работ отечественных и зарубежных авторов, включает 65 рисунков, 88 таблиц и обширного Приложения (172 стр. в дополнении к 306 стр.).

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, отражена научная новизна и ее практическая значимость. Далее приведена информация об апробации работы.

Глава 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Первый вопрос, обсуждавшийся в данной главе, посвящен обзору информации по химическому составу вин и влиянию каждого из групповых компонентов на качество напитка. Обсуждается роль пептидов и аминокислот в формировании аромата и вкуса и даже способности к пенообразованию в случае игристых вин. Внимание уделяется происхождению и роли спиртовых составляющих продукции, альдегидов, кислот, эфиров и ацеталей. Затем

приводится обзор по веществам обширной группы фенольной природы различных классов.

Второй вопрос, имеющий прямое отношение к настоящей диссертационной работе, связан с обзором методических подходов к оценке качества виноградных вин. Автор приводит систематизацию способов фальсификации винодельческой продукции. Рассматриваются комплекс товарно-партийной идентификации и квалиметрического контроля, которые по ГОСТам РФ направлены в основном на контроль безопасности продукта. Затем приводится обзор научной литературы, в которой предполагаются варианты контроля различных химических показателей с использованием химических, физико-химических и современных физических методов анализа, включая изотопный анализ методом масс-спектрометрии. Особое внимание уделяется методологии распознавания вина как целого на основе анализа «образов», методам установления возраста вина по характерным изменениям в электронных спектрах.

Третий вопрос акцентирован на используемых к настоящему времени методах контроля качества, включающих

- а) газохроматографический анализ, используемый не только для определения различных естественных ингредиентов, но и возможных нежелательных добавок – в виде пестицидов и даже остатков технологических жидкостей, попадающих в сырье с аппаратов механизированной сборки винограда;
- б) ВЭЖХ, используемую для определения красителей, карбоновых кислот, фенольных соединений (в том числе антоцианов), консервантов, углеводов и др.;
- в) капиллярный электрофорез, включенный в ГОСТы, и используемый для определения карбоновых кислот, синтетических красителей, катионов и анионов.

На основании выполненного анализа литературных данных автором сформулированы цель и задачи исследования.

Глава 2.

В дальнейшем автор отказался от обычной практики разделения экспериментальной части и результатов и их обсуждения, приведя всю основную информацию в **главе 2.**

В этой главе сразу вслед за описанием использованного в работе оборудования, реактивов и материалов, объектов и методов исследования приводится раздел «разработка современных методик анализа вина», начинающаяся с обоснования методов анализа, основанная на анализе нормативной документации в РФ и в других странах

Подраздел 2.2.1 «Газохроматографическое определение компонентов дистиллятов и виноградных вин» посвящен разработке метода определения летучих компонентов. При этом основной упор делается не на особенности разделения подлежащих разделению компонентов, а на нюансы метода, результаты которого зависят от процессов при испарении проб и загрязнении

начальной части капилляра. Для контроля надежности полученных результатов автор использовал результаты альтернативных химических методов анализа и показал, что ряд данных химического анализа не отличаются высокой достоверностью. В результате предложена методика определения летучих веществ в винных дистиллятах и винах и были определены границы относительной погрешности по основным компонентам. При этом подчеркивается, что анализ красных вин сопряжен с быстрым загрязнением начального участка хроматографической колонки, и предлагается дополнительная пробоподготовка в виде отгонки. Однако для такого варианта степень открытия большинства летучих веществ, как следует из данных табл. 11 заметно снижена. Наконец, метод применен для анализа химического состава ряда дистиллятов предприятий Краснодарского края.

Подраздел 2.3 «Электрофоретическое определение ионных компонентов виноградных вин» – речь шла об определении основных катионов – калия, натрия, магния и кальция. Вначале изложено обоснование условий для электрофоретического определения катионов в винодельческой продукции, включая разработку методик пробоподготовки. Затем последовала разработка условий определения аммонийного азота с подробным критическим анализом нескольких вариантов пробоподготовки, необходимых для перевода форм азота в аммонийную форму.

Подраздел 2.4 посвящен разработке условий электрофоретического определения основных неорганических анионов (хлорид-, сульфат-, нитрат- и нитрит-ионов, общего фосфора), приоритетных аминокислот и даже углеводов. И если удачное решение (т.е. с высокой правильностью и воспроизводимостью) проблемы определения хлорид-, сульфат-, нитрат и нитрит-ионов было достигнуто относительно легко, то пробоподготовка для определения фосфатов оказалась трудной задачей, решенной автором также успешно. При определении аминокислот автор поставил задачу сокращения времени пробоподготовки, т.е. исключение дериватизации, благодаря последующему косвенному детектированию. И хотя не было представлено ни одной положительной электрофореграммы (за исключением электрофореграммы в Приложении) по приведенным в разделе табличным данным следовало, что были найдены условия определения аргинина, треонина и пролина за относительно небольшое время при высокой эффективности пиков и их разделения. Затем аналогичная работа была выполнена для определения фенилаланина, триптофана и тирозина, - определяющих, в конечном итоге, органолептическую характеристику вин. Появление этих аминокислот как объектов анализа весьма необычно, поскольку о них речь не шла в предыдущем материале и не понятно, не мешали ли эти вещества определению предыдущей тройки аминокислот. Впрочем, возможность прямого детектирования этих кислот по УФ-поглощению позволяет рассматривать их отдельно, без введения веществ для косвенного детектирования. В этом случае кроме экспериментальных данных, подтверждающих правильность определения кислот, приведена, наконец, и положительная электрофореграмма. Для разработки разделения и

косвенного детектирования сахаров в методе капиллярного электрофореза использовали сорбат калия, а для перевода сахаров в ионную форму рН повышали до 9. Ввиду низкой кислотности ОН-групп сахаров метод оказался очень чувствительным к параметрам проведения разделения, что подтверждается рядом отрицательных (т.е. неудачных) электрофореграмм. При этом автор и в данном случае достиг желаемого результата, хотя понять информацию, включенную в табл.42 без дополнительных разъяснений не представляется возможным.

В подразделе 2.5 разрабатываются критерии и подходы комплексной идентификации натуральности вин с использованием разработанных методов определения различных компонентов виноматериалов. Вначале на основе огромной «тренировочной» выборки были установлены диапазоны варьирования концентрации ионов калия ($400 - 1100 \text{ мг/дм}^3$) в нефальсифицированных винах, что позволило произвести быструю первичную дифференциацию вин. Затем был предложен вариант определения этого показателя к зольности, позволивший отделить вина, фальсифицированные добавками солей калия. Затем рассматривается вопрос использования для решения поставленной задачи данных по содержанию многоатомных спиртов. Этот раздел особенно интересен для не специалистов в виноделии: оказывается, что содержание глицерина всего на порядок уступает содержанию этанола! Для определения этого показателя в данной части работы приводится описание методики определения концентрации глицерина с использованием капиллярной газовой хроматографии, - нетривиального метода определения труднолетучего соединения.

Затем предлагается дифференциация вин по интегральному профилю содержащихся в нем фенольных веществ также методом капиллярного электрофореза, хотя судя по условиям электрофореза контролировали только фенольные соединения кислотного характера. При этом автором был предложен по сути метод отпечатков пальцев, который может быть эффективным даже при отсутствии идентификации основных веществ некоторых групп, разделяющихся на электрофореграмме, хотя в работе предложено количественно оценивать такие группы по четырем маркерам – по тирозину, миндальной, сиреневой и галловой кислотам. В результате приведены диапазоны высот пиков для трех групп фенольных соединений для белых и красных вин. В этом отношении интересно было бы предложить варианты идентификации вин, в которых для изменения органолептических свойств специально добавляют экстракты плодов некоторых даже экзотических для РФ растений.

Подразделы 2.6 и 2.7 посвящены разработкам методов статистических подходов для оценки качества вин. Вначале ставится задача нахождения корреляций между самой специфической оценкой качества вин – дегустационной оценкой, и реальными количественными результатами измерения различных показателей. Строго говоря, надежного сопоставления в данном случае добиться принципиально трудно, поскольку заведомо не известно, на какие ингредиенты реагируют рецепторы дегустатора, -

соответствующие ингредиенты могут находиться в ничтожных, недоступных для измерения концентрациях. Но в любом случае, подход очень интересен. Особенно, если бы дегустаторы оценивали искусственные смеси, в которые были бы добавлены только те компоненты, по которым автор намеревался проводить корреляцию. И существенно то, что автору удалось добиться неплохой корреляции – предложены статистически обоснованные уравнения, связывающие предполагаемую оценку дегустатора с концентрациями пролина, треонина и аргенина, редуцированные до двух переменных (по концентрации пролина и треонина).

Далее разрабатывалось вероятностно-статистическое моделирование органолептических качеств виноградных вин. Используя корреляционный анализ, автор определял вклад в субъективную органолептическую оценку вин концентрации ацетальдегида, этилацетата, метанола, высших спиртов, уксусной кислоты и фурфурола. Для выводов определяли корреляционные коэффициенты и уровень их значимости (т.е. отличия от 0). Набор объектов был разделен на 2 группы – в первую включили натуральные вина высокого качества, а во вторую – вина низкого качества. В результате исследования были предложены уравнения для прогнозирования оценки качества вина, которые достаточно надежно дифференцировали вина российского производства (таб. 69). В данной главе описаны разработки методологий применения ряда других статистических методов, включая дискриминантный анализ, двумерный частотный анализ, успешно примененные для достоверной классификации вин по качественным показателям.

Достоверность основных результатов и выводов

Степень достоверности результатов не вызывает сомнения, так как она обеспечена применением диссертантом для обработки полученных результатов и построения прогностических моделей специализированного программного пакета высокого уровня - STATISTICA 10.

Основные материалы диссертационной работы апробированы в печати и обсуждены на научно-практических конференциях различного уровня: опубликованы в 29 научных статьях в рецензируемых российских журналах рекомендованных ВАК Минобрнауки России по аналитической химии и по виноделию, и в одной монографии; автором представлен список из 10 патентов и свидетельств, 6-ти нормативных документов.

Представленные автором **выводы** по диссертационной работе в полной мере отражают выполнение диссертантом задач исследования и вполне обоснованы. Полученные экспериментальные данные и сделанные на их основе выводы в диссертации Якубы Ю.Ф. являются новыми и оригинальными и представляют как научный, так и практический интерес. Автореферат в целом отражает основное содержание диссертации.

Проделанная автором работа заслуживает безусловного внимания, полезна с теоретической, методической и практической точек зрения.

К диссертационной работе имеется ряд вопросов, замечаний и пожеланий

- 1) Замечания по всей диссертации: Часто используются понятия, требующие объяснений хотя бы один раз. В ряде таблиц используются обозначения не имеющие объяснений, и параметры с не указанными размерностями, нет интервалов погрешностей для экспериментальных данных. Уравнения для зависимости величины сигнала от концентрации дескриптора во многих местах имеют очень большой ряд значащих цифр без учета погрешности их определения: $Y = 1.18789 X$, стр.91 $Y = 1.18873 X$, стр.107 $Y = 1.18766 X$, стр.114
- 2) Обнаруживаются неудачные выражения: «...уксусный альдегид с обоими реактивами реагирует одинаково линейно (?)» «...градуировки прибора в прямой (?) форме...» «... знание содержания металлов (наверное ионов), стр.89? «...что свидетельствует о возможности выражения данных прямой... (стр.91)»
- 3) Встречаются химические ошибки: «...окислении органических форм, содержащих азот, и последующего его детектирования в виде соединений аммония» , стр.95 (и еще в двух местах – стр. 98 и стр. 99)- аммоний содержит атом азота в наиболее восстановленной форме и получить его окислением других форм невозможно. Стр.177. «... В результате обратимой реакции конденсации двух молекул спирта образуется ацетоин...». Стр. 184. Фраза «Вещества, содержащие неопредельные связи и обладающие электропроводностью (?), регистрировали в виде характерного для данного режима анализа вина набором пиков различной интенсивности» - неудачная и некорректно сформулирована.
- 4) В таблицах с критерием Стьюдента в колонках p имеются значения 0.000 – такая запись не корректна, т.к. этот параметр не может быть равным 0 (тем более исключено неравенство $p < 0,000$), хотя могут быть сколь угодно маленьким, но положительным.
- 5) В работе изложены подходы к разработке большого спектра конкретных методик определения различных показателей с использованием капиллярного электрофореза, но удивительно то, что положительные результаты представлены в виде табличных данных, а капиллярные электрофореграммы, представленные в разделах, показывают избыточное количество неудачных вариантов, хотя на выручку приходит информация из Приложений.

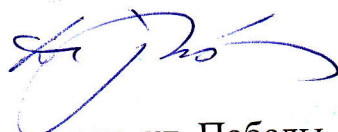
Заключение

Сделанные замечания и возникшие вопросы не снижают общей высокой оценки работы. Работа Якубы Ю.Ф. имеет большое значение, - как пример широкого использования статистических методов в аналитической химии; а также и ярко выраженное прикладное значение, а через объекты анализа – и социально-экологическое значение. Она представляет собой самостоятельное законченное научное исследование, и полностью соответствует критериям, предъявляемым к докторским диссертациям, п.9 Положения ВАК РФ «О

порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842.

На основании представленных материалов считаю, что работа соответствует паспорту специальности 02.00.02 Аналитическая химия (п.2, п.4, п.5, п.6, п.9, п.10, п.13, п.14), а автор диссертационной работы Якуба Юрий Федорович заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 02.00.02 – Аналитическая химия.

Профессор кафедры общей химии
федерального государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»,
доктор химических наук,
профессор



Дейнека Виктор Иванович

Почтовый адрес: 308015, Белгород, ул. Победы, 85

Тел. 8-961-170-18-76

E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Дейнека Виктор Иванович,

Специальность, по которой защищена ученая степень:

05.11.11 – хроматография и хроматографические приборы (химические науки)

